

ЛАКТОФЕРРИН С ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТОЙ ИНДУЦИРУЕТ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Григорьева Д.В.¹, Луценко В.Е.¹, Власенко А.Ю.², Горудко И.В.¹,
Черенкевич С.Н.¹, Соколов А.В.^{2,3,4}

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ФГБУН Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

Недавно в грудном молоке был выявлен комплекс α -лактальбумина с олеиновой кислотой (ОА) (human α -lactalbumin made lethal to tumor cells – HAMLET), обладающий апоптотической активностью в раковых клетках как *in vivo*, так и в клинических испытаниях [1]. В настоящее время установлено, что лактальбумин коровы, лизоцим лошади, а также β -лактоглобулин человека связывают ОА и формируют комплексы, проявляющие противоопухолевую активность.

Лактоферрин (Лф) является глобулярным, железо-связывающим белком с молекулярным весом 78 кДа, широко распространенным в различных секреторных жидкостях, таких как молоко, слезы, слюна и др. Лф в организме человека проявляет многочисленные функции, в том числе антибактериальные и противовоспалительные. В работе [2] показано, что Лф коровы может взаимодействовать с ОА с участием ван-дер-ваальсовых взаимодействий и водородных связей, образуя HAMLET-подобный комплекс.

Выявлено, что Лф с ОА индуцирует апоптоз раковых клеток. Показано, что апоптотическая активность Лф-ОА увеличивается с увеличением содержания ОА [2]. Таким образом, в настоящее время показано, что Лф-ОА обладает цитотоксическим действием в отношении раковых клеток, однако остается неизвестным – как данный комплекс действует на нормальные клетки крови. Поэтому нами исследовано влияние Лф-ОА на лизис эритроцитов крови человека.

Комплексы Лф, выделенного из молока коров, с ОА получали смешиванием белка с ОА и последующим диализом. Так были получены комплексы, содержащие 1, 2, 4 и 8 молекул ОА на 1 молекулу Лф.

Был проведен сравнительный анализ влияния Лф и комплексов Лф-ОА на гемолиз эритроцитов. Установлено, что Лф и комплексы Лф, содержащие различное количество ОА, в концентрации до 700 мкг/мл не вызывают разрушения эритроцитов в суспензии ($4 \cdot 10^6$ кл/мл). При концентрациях комплексов Лф-ОА выше 700 мкг/мл наблюдается гемолиз

эритроцитов, который усиливается как с увеличением концентрации Лф-ОА, так и с увеличением количества ОА в составе Лф. В то же время Лф не содержащий ОА не оказывал токсического эффекта на эритроциты даже при концентрациях выше 5 мг/мл.

Исследовано также действие разных типов комплексов Лф с ОА при низких концентрациях, определяемых *in vivo*, на кислотный гемолиз эритроцитов. Показано, что после обработки эритроцитов комплексами Лф-ОА (100 мкг/мл), скорость кислотного гемолиза эритроцитов достоверно ($p < 0,05$) увеличивается на 20-30 %, а время гемолиза уменьшается на 15-20 %. Необходимо отметить, что эффект усиления гемолиза был тем больше, чем выше молярное соотношение Лф:ОА, и достигал 40-50 % при действии комплексов, содержащих 8 молекул ОА на 1 молекулу Лф.

Церулоплазмин (ЦП) – белок острой фазы воспаления, являющийся универсальным антиоксидантом [3]. В работе [4] показано, что данный белок способен образовывать комплексы с Лф и изменять физико-химические свойства последнего. В отличие от комплекса Лф-1ОА, комплекс Лф-8ОА не взаимодействовал с ЦП. Нами было исследовано действие ЦП на способность Лф-8ОА усиливать кислотный гемолиз эритроцитов. После обработки эритроцитов ЦП (300 мкг/мл) Лф-8ОА терял способность усиливать кислотный гемолиз эритроцитов (скорость и время гемолиза составили $100,1 \pm 2,2$ % и $94,5 \pm 1,0$ %, соответственно, по сравнению с параметрами кислотного гемолиза в контроле). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ЦП защищает эритроциты от гемолитического действия Лф-8ОА.

Работа поддержана грантом Президента РФ МК-6062.2014.4.

Литература:

1. Baumann A., Underhaug Gjerde A., Ying M., Svanborg C., Holmsen H., Glomm W.R., Martinez A., Halskau Ø. // Journal of Molecular Biology. – 2012. – Vol. 418. – P. 90-102.
2. Fang B., Zhang M., Tian M., Jiang L., Yuan Guo H., Zheng Ren F. // Biochimica et Biophysica Acta. – 2014. – Vol. 1841. – P. 535-543.
3. Белов С.В., Карякина Е.В. // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, №2. – С. 180-189.
4. Sokolov A.V., Ageeva K.V., Pulina M.O., Zakharova E.T., Vasilyev V.B. // BioMetals. – 2009. – V. 22. – P. 521-529.